

18 JUN 2003 PCT/KR 03/01441

20/KR 28.07.2003

REC'D 13 AUG 2003

WIPO

PCT

대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

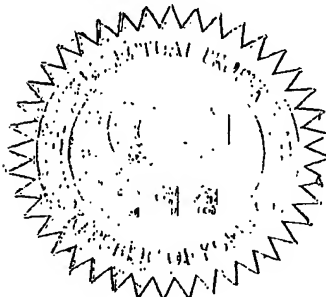
This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0042794
Application Number

출원년월일 : 2002년 07월 20일
Date of Application JUL 20, 2002

출원인 : 한국과학기술연구원
Applicant(s) KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

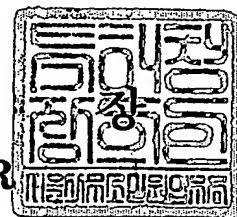
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



2003 년 07 월 16 일

특허청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0013
【제출일자】	2002.07.20
【국제특허분류】	A61P 43/00
【발명의 명칭】	옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 저해제
【발명의 영문명칭】	P-GLYCOPROTEIN INHIBITOR COMPRISING OCTILONIUM BROMIDE AS AN EFFECTIVE INGREDIENT
【출원인】	
【명칭】	한국과학기술연구원
【출원인코드】	3-1998-007751-8
【대리인】	
【성명】	박장원
【대리인코드】	9-1998-000202-3
【포괄위임등록번호】	2000-005976-8
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정혜선
【성명의 영문표기】	CHUNG, Hesson
【주민등록번호】	611117-2030217
【우편번호】	402-715
【주소】	인천광역시 남구 관교동 쌍용아파트 3동 507호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정서영
【성명의 영문표기】	JEONG, Seo Young
【주민등록번호】	560310-1019120
【우편번호】	411-747
【주소】	경기도 고양시 일산구 주엽2동 문촌마을 라이프아파트 205동 501호
【국적】	KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

권익찬

【성명의 영문표기】

KWON, Ick Chan

【주민등록번호】

590302-1690820

【우편번호】

139-230

【주소】

서울특별시 노원구 하계동 시영7단지아파트 706동 704호

【국적】

KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

박영택

【성명의 영문표기】

PARK, Yeong Taek

【주민등록번호】

580601-1821012

【우편번호】

425-735

【주소】

경기도 안산시 본오3동 태영아파트 203동 602호

【국적】

KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

이인현

【성명의 영문표기】

LEE, In Hyun

【주민등록번호】

751202-1560314

【우편번호】

156-011

【주소】

서울특별시 동작구 신대방1동 600-99

【국적】

KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

육순홍

【성명의 영문표기】

YUK, Soon Hong

【주민등록번호】

590826-1056217

【우편번호】

305-755

【주소】

대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 133동 1105호

【국적】

KR

【심사청구】

청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인
박장원 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 11 면 11,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 11 항 461,000 원

【합계】 501,000 원

【감면사유】 정부출연연구기관

【감면후 수수료】 250,500 원

【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 옥틸로늄 브로마이드의 약물의 세포내 흡수증가를 위한 p-당단백질 저해제로서의 신규한 용도에 관한 것이다. 보다 상세하게, 본 발명은 p-당단백질을 저해함으로써 항암제와 같은 약물과 동시에 또는 약물 투여 전에 경구로 투여 시에 약물의 세포내 흡수율 및 생체내 이용률을 향상시키는 p-당단백질 저해제로서의 옥틸로늄 브로마이드를 제공한다.

【대표도】

도 1

【색인어】

항암제, 파클리탁셀, 택솔, 경구용, 옥틸로늄 브로마이드, 생체이용율.

【명세서】

【발명의 명칭】

옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 저해제{P-GLYCOPROTEIN INHIBITOR COMPRISING OCTILONIUM BROMIDE AS AN EFFECTIVE INGREDIENT}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol[®]을 흡수증가제인 옥틸로늄 브로마이드를 사용하여 경구로 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다.

- ● - ; Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol[®](파클리탁셀 1 mg)을 경구로 투여한 군,

- ○ - ; 옥틸로늄 브로마이드를 2 mg을 투여하고 30 분 경과한 후 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol[®](파클리탁셀 1 mg)을 경구로 투여한 군,

- ▲ - ; Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol[®]을 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10 μ g).

도 2는 파클리탁셀을 봉입한 트리카프릴린 유제를 흡수증가제인 옥틸로늄 브로마이드를 사용하여 경구로 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다.

- ● - ; 트리카프릴린 유제 (파클리탁셀 1 mg)를 경구로 투여한 군,

- ○ - ; 옥틸로늄 브로마이드를 2 mg을 투여하고 30 분 경과한 후 트리카프릴린 유제 (파클리탁셀 1 mg)를 경구로 투여한 군.

도 3은 파클리탁셀을 포함한 유성용액을 흡수증가제인 옥틸로늄 브로마이드를 사용하여 경구로 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다.

- ● - ; 유성용액 (파클리탁셀 1 mg)을 경구로 투여한 군,
- ○ - ; 옥틸로늄 브로마이드를 2 mg을 투여하고 30 분 경과한 후 유성용액 (파클리탁셀 1 mg)을 경구로 투여한 군.

도 4는 파클리탁셀을 포함한 유성용액을 흡수증가제인 옥틸로늄 브로마이드의 투여량을 달리하여 동시에 경구로 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다.

- ● - ; 유성용액 (파클리탁셀 1 mg)을 경구로 투여한 군,
- ○ - ; 유성용액 (파클리탁셀 1 mg)과 옥틸로늄 브로마이드를 0.5 mg을 동시에 경구로 투여한 군,
- ▲ - ; 유성용액 (파클리탁셀 1 mg)과 옥틸로늄 브로마이드를 2 mg을 동시에 경구로 투여한 군,
- △ - ; 유성용액 (파클리탁셀 1 mg)과 옥틸로늄 브로마이드를 4 mg을 동시에 경구로 투여한 군,

도 5는 로다민 123의 흡수정도에 미치는 옥틸로늄 브로마이드의 영향을 알 마보기 위하여 뒤집은 장 절편 (everted sac)을 이용하여 장내에 흡수된 로다민 123을 정량한 그래프이다.

- ; 10 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 로다민 123를 단독으로 투여한 군,

■ ; 10 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 로다민 123와 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 옥틸로늄 브로마이드를 함께 투여한 복합투여군.

도 6은 독소루비신의 흡수정도에 미치는 옥틸로늄 브로마이드의 영향을 알 마보기 위하여 뒤집은 장 절편 (everted sac)을 이용하여 장내에 흡수된 독소루비신을 정량한 그래프이다.

□ ; 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 독소루비신을 단독으로 투여한 군,

■ ; 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 독소루비신과 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 옥틸로늄 브로마이드를 함께 투여한 복합투여군.

도 7은 유드라짓 RS 100을 이용한 외피코팅하여 제조된 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립으로부터 옥틸로늄 브로마이드의 방출속도를 정량한 그래프이다.

- ● - ; 유드라짓 RS 100을 10 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,

- ○ - ; 유드라짓 RS 100을 20 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립

도 8은 유드라짓 NE 30 D를 이용한 외피코팅하여 제조된 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립으로부터 옥틸로늄 브로마이드의 방출속도를 정량한 그래프이다.

- ● - ; 유드라짓 NE 30 D를 10 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,

- ○ - ; 유드라짓 NE 30 D를 20 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립

도 9는 유드라짓 RS 100와 각각 다른 함량의 HPMC를 함께 함유한 을 이용한 조성으로 외피코팅하여 제조된 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립으로부터 옥틸로늄 브로마이드의 방출속도를 정량한 그래프이다.

- ● - ; HPMC를 추가로 10 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,

- ○ - ; HPMC를 추가로 20 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,
- ▲ - ; HPMC를 추가로 30 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,
- △ - ; HPMC를 추가로 40 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,
- ■ - ; HPMC를 추가로 50 % 함유한 조성으로 외피코팅한 서방형 과립,

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <34> 본 발명은 옥틸로늄 브로마이드(octylonium bromide, 브롬화 옥틸로늄)의 약물의 세포내 흡수증가제로서의 신규한 용도에 관한 것이다.
- <35> 옥틸로늄 브로마이드는 위장관경련 및 과민성대장증후군 치료제로 현재 시판되는 내복약이다. 옥틸로늄 브로마이드는 과민반응으로 인한 위장관의 수축된 근육을 풀어주어 진경작용을 나타내며 장의 운동성과 긴장성을 조절하여 과민성 대장증후군에 잘 효과가 좋은 것으로 알려져 있다. 또한 장내 흡수율이 낮고 위장관 평활근에만 작용하므로 야몽롱, 구갈, 기관지분비억제 등의 전신적인 항콜린성 부작용이 없는 장점이 있다. 옥틸로늄 브로마이드는 오틸리늄 브로마이드 (otilinium bromide) 또는 오틸로늄 브로마이드 (otilonium bromide)라고도 불린다.
- <36> 한편 p-당단백질 (p-glycoprotein, Pgp)은 다약제내성유전자 (multidrug resistance gene; MDR gene) 산물이며, 세포막에 존재하여 각종 독성물질이 세포질 내로 들어오지 못하도록 차단하는 작용을 한다. p-당단백질은 각종 독성물질, 특히 항암제 등과 같은 외부에서 흡수된 물질을 세포의 외부로 운송하여 내보내는 역할을 한다. p-당

단백질이 있는 암세포는 항암치료에 잘 듣지 않으며 항암제를 반복 사용할수록 내성이 커진다. 이러한 p-당단백질은 혈뇌장벽(blood-brain barrier, BBB)과 장의 점막세포에도 많이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다. 따라서, 항암제 내성을 극복하기 위해서 또는 항암제 등 여러 가지 약리학적 활성 물질을 경구로 투여하여 장 내에서 흡수되도록 하기 위해서, p-당단백질의 활성을 저해하는 물질을 개발이 필요하며, 현재 세계적으로 이에 대한 연구에 관심이 증가하는 추세이다. 현재, 이러한 p-당단백질 저해제로서 칼슘채널 억제제인 베라파밀 (verapamil), 니페디핀 (nifedipine), 칼모듈린 길항제 (calmoduline antagonist)인 트리플루오로페라진 (trifluoroperazine), 알칼로이드 (alcaloid)인 빈크리스틴 (vincristine), 빈블라스틴 (vinblastine), 면역억제제인 사이클로스포린 A (cyclosporine A) 등이 알려져 있다. 이 중에서, 베라파밀은 협심증과 부정맥 치료제로 위장장애가 나타날 수 있는 부작용이 있고, 고혈압치료제인 니페디핀은 저혈압, 어지럼증, 말초부종, 변비, 구역질 등의 부작용이 나타날 수 있다. 빈크리스틴과 빈블라스틴 역시 여러 가지 심한 부작용이 나타날 수 있다. p-당단백질 저해제로 가장 널리 사용되고 있는 사이클로스포린 A는 면역억제제이므로 면역기능이 저해될 수 있는 치명적인 부작용이 생길 수 있다.

<37> 이에 따라 부작용을 최소화하고 활성이 높은 p-당단백질 저해제를 탐색하거나 합성하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 면역기능의 저하를 가져오지 않도록 합성된 사이클로스포린의 유도체인 SDZ PSC833이 개발되었고 (Novartis), 한국화학연구원의 유성은 박사팀에 의해 p-당단백질 저해기능을 가지는 인단유도체가 합성되기도 했다.

<38> 본 발명자들은 p-당단백질 저해제를 탐색하던 중 칼슘채널억제제인 옥틸로늄 브로마이드(octylonium bromide)를 사용한 결과, p-당단백질에 의해서 흡수율이 저하되는 여

러 가지 약물과 병용 투여 시, 약물의 장 내 흡수율이 현저하게 증가하는 놀랄만한 결과를 발견하여 본 발명에 이루게 되었다. 본 발명에서 흡수증가제로 사용된 옥틸로늄 브로마이드는 미국 특허 제 5,968,972 호에서 사용된 흡수증가제에 비하여 사용상의 폭이 넓고, 독성이 적은 약물이다. 또한, 경구 투여 시, 약 5 %만 전신으로 흡수되고 95 % 이상이 위장관에 존재하므로 장에서의 농도가 국소적으로 높기 때문에 위장관내에서 항암제 등의 경구투여시 생체이용율을 높일 수 있고, 상기 흡수되지 아니한 95 % 완전히 배설되어 인체에 무해하다는 장점이 있다. 또한, 본 발명에서는 흡수증가제인 옥틸로늄 브로마이드의 투여 양이 증가할수록 이와 비례하여 항암제의 혈중 농도가 증가하는 경향성을 발견하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<39> 본 발명의 목적은 p-당단백질의 활성을 저해하는 옥틸로늄 브로마이드의 신규한 용도를 제공하는 것이다.

<40> 본 발명의 또 다른 목적은 경구투여시 생체이용율이 낮은 약물과 복합 투여됨으로써 약물의 생체내 이용률 및 세포내 흡수율을 증가시키는 옥틸로늄 브로마이드의 신규한 용도를 제공하는 것이다.

<41> 본 발명의 또 다른 목적은 경구투여시 생체이용율이 낮은 항암제와 복합 투여됨으로써 항암제의 생체내 이용률 및 세포내 흡수율을 증가시키는 옥틸로늄 브로마이드의 신규한 용도를 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

- <42> 본 발명은 장 점막 세포에 존재하는 p-당단백질의 활성을 억제함으로써, 경구 투여 시 장 내에서의 흡수율이 낮은 약물의 세포내 흡수율을 증진시키는 옥틸로늄 브로마이드의 신규한 용도에 관한 것이다.
- <43> 본 발명에 있어서, p-당단백질 억제제로서의 유효성분인 옥틸로늄 브로마이드는 개체의 무게를 기준으로 Kg 당 약 0.01 mg 내지 약 1 g을 투여할 때 p-당단백질 억제제의 활성을 갖는다. 옥틸로늄 브로마이드의 투여량이 0.01 mg 이하이면 p-당단백질의 억제 효과가 거의 없으며, 1 g 이상이면 위장장애가 나타날 수 있다.
- <44> 또한, 본 발명의 p-당단백질 억제제로서의 유효성분인 옥틸로늄 브로마이드는 서방형으로 제조하여 12 시간까지 지속적으로 p-당단백질 억제제의 활성을 가지도록 할 수 있다. 이와 같은 서방형 제형은, 먼저 시드가 되는 일정한 크기의 과립을 제조한 후, 옥틸로늄 브로마이드로 과립을 코팅하고 외피에 약물의 방출속도를 조절할 수 있는 고분자 코팅을 하여 제조할 수 있다.
- <45> 본 발명의 p-당단백질 억제제로서의 옥틸로늄 브로마이드는 약물과 동시에 투여하거나 약물투여 30분전에 투여할 수 있다.
- <46> 항암제의 흡수율을 높이기 위하여 정맥주사, 근육주사, 종양내 주사, 피하주사, 경구 투여, 방광내 투여, 또는 복강투여를 통하여 p-당단백질 저해제의 활성성분인 옥틸로늄 브로마이드를 항암제와 병용투여 할 수 있다. 이 때, 경구 투여가 가장 바람직하며, 옥틸로늄 브로마이드를 정제 또는 캡슐 형태로 투여할 수 있다.

<47> 옥틸로늄 브로마이드와 병용투여 하여 흡수율이 증가되는 약물로는 항암제인 독소루비신 (Doxorubicin), 도노루비신 (Daunorubicin), 빈블리스틴 (Vinblastine), 빈크리스틴 (Vincristine), 액티노마이신 D (Actinomycin D), 파클리탁셀 (Paclitaxel), 테니포사이드 (Teniposide), 에토포사이드 (Etoposide), 면역억제제인 사이클로스포린 A (Cyclosporin A), FK506, 고지혈증 치료제인 로바스타틴 (Lovastatin), 항히스타민제인 터펜다인 (Terfendaine), 스테로이드인 알도스테론 (Aldosterone), 하이드로코티존 (Hydrocortisone), 코티졸 (Cortisol), 코기코스테론 (Corticosterone), 덱사메타존 (Dexamethasone), 도파민 길항제인 도페리돈 (Domperidone), HIV 프로테아제 억제제인 암프레나비르 (Amprenavir), 인다나비르 (Indinavir), 넬피나비르 (Nelfinavir), 리도나비르 (Ritonavir), 사퀴나비르 (Saquinavir), 심장약인 디곡신 (Digoxin), 퀴니딘 (Quinidine), 구토방지제인 온단세트론 (Ondansetron), 지사제인 로페라미드 (Loperamide), 통풍치료제인 콜키신 (Colchicine), 항생제인 에리스로마이신 (Erythromycin), 구충제인 이베르멕틴 (Ivermectin), 결핵치료제인 리팜핀 (Rifampin) 또는 형광물질인 로다민 123 등이 있다.

<48> 상기 옥틸로늄 브로마이드는 난용성 약물을 가용화 시키는 유성조성물에 봉입된 약물과 병용 투여 시 상기 약물의 흡수를 보다 더 증진시킬 수 있다. 이 때, 상기 유성조성물은 한 가지 이상의 모노글리세라이드 및/또는 한 가지 이상의 기름 및/또는 한 가지 이상의 유화제를 포함할 수 있다.

<49> 이 때, 상기 모노글리세라이드계 화합물은 포화 또는 불포화된 C₁₀-C₂₂인 모노글리세라이드계 화합물 중에서 한 가지 이상을 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 본 발명의 모노글리세라이드계 화합물로서 모노올레인, 모노팔미트레인, 모노미리스틀레인, 모

노일레이딘, 모노이루이신 및 식물성 또는 동물성 기름의 트리글리세라이드로부터 반합성된 모노글리세라이드의 혼합물을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 모노올레인을 사용할 수 있다.

<50> 상기 기름으로서 난용성 약물을 용해시킬 수 있는 트리글리세라이드, 요오드화 기름, 스쿠알란 또는 스쿠알렌, 식물성 또는 동물성 기름을 사용하는 것이 바람직하다.

<51> 이때, 상기 트리글리세라이드로서 포화 또는 불포화된 C_2-C_{20} 인 트리글리세라이드계 화합물 중에서 1종을 이상 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 예컨대, 트리아세틴, 트리부티린, 트리카프로인, 트리카프릴린, 트리카프린, 트리올레인 등을 사용할 수 있다.

<52> 상기 요오드화 오일로서 리파이오돌, 요오드화 양귀비씨 기름, 에티오돌 및 요오드화 대두유 등을 사용할 수 있다.

<53> 상기 식물성 기름으로서 콩기름, 면실유, 올리브유, 양귀비씨 기름, 홍화씨기름 또는 참기름 등이 사용될 수 있다.

<54> 상기 동물성 기름으로서 스쿠알란 또는 스쿠알렌 등이 사용될 수 있다.

<55> 또한, 상기 유화제로서 인지질, 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제 또는 담즙산 (bile acid)을 사용하는 것이 바람직하다.

<56> 이 때, 상기 인지질로서 포스파티딜콜린(Phosphatidyl Choline) 유도체, 포스파티딜에탄올아민(Phosphatidyl ethanolamine) 유도체, 포스파티딜세린(Phosphatidyl serine) 유도체, 친수성 고분자가 결합된 지질(polymeric lipid) 등이 사용될 수 있다.

<57> 상기 비이온성 계면 활성제로서 폴록사머(Poloxamer; Pluronic; 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체), 솔비탄 에스테르(Sorbitan esters; Span), 폴리옥시에틸렌솔비탄(polyoxyethylene sorbitans; Tween), 폴리옥시에틸렌 에테르(polyoxy ethylene ethers; Brij) 등이 사용될 수 있다.

<58> 상기 음이온성 계면 활성제로서 포스파티딜세린 유도체, 포스파티딘산 (Phosphatidic acid) 유도체, 소듐 도데실 설페이트 (sodium dodecyl sulfate; 이하 SDS라 약칭함) 등이 사용될 수 있다.

<59> 상기 양이온성 계면 활성제로는 1,2-다이올레일-3-트리메틸암모늄 프로판 (1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane; 이하 DOTAP이라 약칭함), 다이메틸 다이옥타데실암모늄 클로라이드 (dimethyldioctadecylammonium chloride; 이하 DDAB이라 약칭함), N-[1-(1,2-다이올레일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (N-[1-(1,2-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammonium chloride; 이하 DOTMA이라 약칭함), 1,2-다이올레일-3-에틸포스포콜린 (1,2-dioleoyl-3-ethylphosphocholine; 이하 DOEPC이라 약칭함), 3β -[N-[(N,N'-다이메틸아미노)에탄]카바모일]콜레스테롤 (3β -[N-[(N',N'-dimethylamino)ethan]carbamoyle]cholesterol; 이하 DC-Chol이라 약칭함) 등이 사용될 수 있다.

<60> 상기 담즙산으로서 콜린산 (cholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체, 데옥시콜린산 (Deoxycholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체, 리토콜린산 (Lithocholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체, 또는 체노콜린산 (Chenocholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체 등이 사용될 수 있다.

<61> 또한, 상기 약제 조성물에 첨가제를 5 중량% 이내로 추가적으로 첨가할 수 있다(단, 상기 수치는 제형의 총 중량을 기준으로 한 것이다). 예를 들어, 약물의 가용성을 보다 향상시키기 위하여 알코올, 폴리올, 크레모포어를 추가적으로 첨가할 수 있으며, 약물의 흡수율을 증진시키기 위하여 지방산, 지방산의 에스테르 유도체, 지방산의 알코올 유도체 등과 같은 것을 첨가할 수 있다.

<62> 본 발명은 다음의 실시 예에서 옥틸로늄 브로마이드를 사용할 경우 p-당단백질에 의하여 흡수가 저해되는 여러 가지 약물의 흡수율이 증가됨을 볼 수 있다. 그러나, 이 실시 예가 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

<63> <실시예 1>

<64> Taxol®의 경구투여실험

<65> ① 경구투여실험

<66> Balb/C 마우스 (6~7주령, 암컷)를 4시간 동안 절식시킨 후, 무작위로 두 개의 군으로 나누어 위 존데(gastric sonde)로 경구투여 하였다. 단독투여군으로서 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol® 167 μ l를 0.5 ml의 물에 분산시켜 (파클리탁셀기준 1 mg에 해당) 경구투여 하였으며, 병용투여군으로 옥틸로늄 브로마이드 2 mg을 인산염 완충액 200 μ l 에 용해시킨 후 경구로 투여하고 30분 경과 후 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol® 167 μ l를 0.5 ml의 물에 분산시켜 (파클리탁셀기준 1 mg에 해당) 경구투여하였다. 약물투여후 1, 2, 4, 6, 8 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다.

<67> 비교군으로는 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol[®]을 Balb/C 마우스 (6~7주령, 수컷)에 정맥주사한 후 8 시간까지의 혈중 파클리탁셀 농도를 측정하였다. Taxol[®] 0.1 ml를 5.9 ml의 물에 분산시킨 후 0.1 ml를 (파클리탁셀기준 10 μ g에 해당) 4 시간 절식시킨 Balb/C 마우스의 꼬리 정맥을 통하여 bolus injection 하였다. 약물 투여 후, 0.5, 1, 2, 4, 8 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다.

<68> ② 혈중 파클리탁셀 및 그 체내 대사산물의 정량 (ELISA 방법)

<69> 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 농도는 Hawaii Biotech 사의 Anti-taxane monoclonal kit (모델명 8A10)를 사용하여 정량하였다. 파클리탁셀은 CYP2C8과 CYP3A4에 의해 각각 6- α -히드록시파클리탁셀과 3'-*p*-히드록시파클리탁셀로 대사되는 것으로 알려져 있다. 일차 대사산물을 비롯하여 다양한 파클리탁셀의 대사산물이 혈중에 존재하며, Anti-taxane monoclonal kit는 taxane ring을 가지고 있는 모든 대사산물 및 파클리탁셀을 인식하므로 파클리탁셀의 총 흡수량 중 혈중농도를 정량 할 수 있다 (Grothaus, G.P., Bignami, G.S., O'Malley, S., Harada, K.E., Byrnes, J.B., Waller, D.F., Raybould, T.J.G., McGuire, M.T. and Alvaro, B., Taxane-specific monoclonal antibodies: measurement of taxol, baccatin III, and 'total taxanes' in Taxus brevifolia extracts by enzyme immunoassay. J. Nat. Prod. 58, pp. 1003-1014, 1995).

<70> 먼저 측정하고자 하는 혈액 시료를 4번 정도 연속 희석하여 준비하였다. 택솔-단백질 함유 항원 (Taxol-protein coating antigen, blue label)을 포스페이트 버퍼 살린 (PBS)으로 100배 희석하여 96-웰 플레이트의 각 웰 당 100 μ l 씩 채워준 후 약 1 시간 인큐베이션하였다. 플레이트를 TBST로 4번 세척한 후 1% 소 혈청 알부민을 함유한 PBS

로 1 시간 동안 블로킹하였다. 다시 TBST로 4번 세척한 후 연속 희석시킨 시료를 각 웰 당 50 μ l씩 넣었다. 표준물질로는 HBC Taxol Standard(RED label)을 PBST로 연속 희석하여 각 웰 당 50 μ l씩 넣었다. PBST 4.5 ml와 anti_taxan rabbit Ab(green label) 50 μ l를 섞어서 만든 이하 항체용액을 각 well 당 50 μ l씩 넣었다. Well을 TBST로 4번 세척한 후 이차 항체를 PBST에 1000배 희석하여 well 당 100 μ l씩 넣고 1 시간 인큐베이션 하였다. 다시 TBST로 4번 세척한 후, 1 mg/ml의 pNPP 용액을 각 웰 당 200 μ l씩 첨가하였다. 1시간 상온에서 인큐베이션 한 후, ELISA 판독기를 이용하여 414 nm에서 흡광도를 측정하여 690 nm에서의 값과 비교하여 정량하였다.

<71> ③ 실험결과

<72> 경구투여후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀의 농도변화를 도 1에 나타냈다. Bolus injection 한 정맥주사의 생체이용율을 100 %로 하였을 때 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 경구투여 결과 상대적인 생체이용율은 다음 식으로 구하였다.

<73>

생체이용율 (Bioavailability, %) =	AUC_{oral}	x	$DOSE_{iv}$	x 100
	AUC_{iv}		$DOSE_{oral}$	

<74> 위 식에서 AUC_{oral} 및 AUC_{iv} 은 각각 경구투여 및 정맥주사 후 area under the curve이며, $DOSE_{iv}$ 및 $DOSE_{oral}$ 은 경구투여 및 정맥주사시의 파클리탁셀의 투여량이다. Taxol®을 단독으로 경구투여할 경우 생체이용율은 정맥주사시와 비교할 때 6.5 %인 반면 옥틸로늄 브로마이드와 병용투여할 경우 생체이용율은 약 22.8 %로 약 3.5배 증가하였다.

<75> <실시예 2>

<76> 파클리탁셀을 봉입한 트리카프릴린 유제의 경구투여실험

<77> 트리카프릴린 1 g에 0.2 g의 트윈 80과 12 mg의 파클리탁셀을 첨가한 후 40 ℃에서 배쓰형 소니케이터에서 초음파처리 하여 완전히 용해시켰다. 상기의 유성용액에 물 4.85 ml를 첨가한 후 프로브 타입 소니케이터(High intensity ultrasonic processor, 마이크로프로세서 제어, 600-Watt 모델)로 2분간 초음파 분해 처리하여 파클리탁셀을 봉입한 트리카프릴린 유제를 제조하였다. 분산액은 상변화 없이 안정하였으며 파클리탁셀의 침전 역시 관찰되지 않았다.

<78> 상기 실시예 1과 같은 방법으로 파클리탁셀을 봉입한 트리카프릴린 유제 500 μ l (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 Balb/c 마우스에 경구투여하였다 (단독투여군). 병용투여군으로 옥틸로늄 브로마이드 2 mg을 인산염 완충액 200 μ l 에 용해시킨 후 경구로 투여하고 30분 경과 후 파클리탁셀을 봉입한 트리카프릴린 유제 500 μ l (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 경구투여하였다. 약물투여후 1, 2, 4 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 2에서 보여준다. 실시예 1에서 사용한 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10 μ g/마우스)과 비교하여 생체이용율을 계산하였다. 파클리탁셀을 봉입한 트리카프릴린 유제를 단독으로 투여할 경우 생체이용율은 0.0 %로 전혀 흡수되지 않으나, 옥틸로늄 브로마이드와 병용투여할 경우 생체이용율은 약 0.63 %로 증가하였다.

<79> <실시예 3>

<80> 파클리탁셀을 봉입한 유성용액의 경구투여실험

<81> 모노올레인 1 g, 트리카프릴린 1 g과 트윈 80 0.4 g을 넣은 후 약 40 ℃로 가열하여 완전히 섞어서 점성의 유성용액 (oily solution)을 제조하였다. 유성용액에 24 mg의 파클리탁셀을 첨가한 후 배쓰형 소니케이터에서 초음파처리 하여 완전히 용해시켰다.

<82> 상기 실시예 1과 같은 방법으로 파클리탁셀을 봉입한 유성용액 100 μl (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 Balb/c 마우스에 경구투여하였다 (단독투여군). 병용투여군으로 옥틸로늄 브로마이드 2 mg을 인산염 완충액 200 μl 에 용해시킨 후 경구로 투여하고 30분 경과 후 파클리탁셀을 봉입한 유성용액 100 μl (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 경구투여하였다. 약물 투여 후, 1, 2, 4 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 3에서 보여준다. 실시예 1에서 사용한 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10 μg /마우스)과 비교하여 생체이용율은 계산하였다. 파클리탁셀을 봉입한 유성용액을 단독으로 투여할 경우 생체이용율은 1.0 %로 거의 흡수되지 않으나, 옥틸로늄 브로마이드와 병용 투여할 경우 생체이용율은 약 21.4 %로 증가하였다.

<83> <실시예 4>

<84> 옥틸로늄 브로마이드의 투여량에 따른 파클리탁셀을 봉입한 유성용액의 경구투여 실험

<85> 상기 실시예 3에서 제조한 파클리탁셀을 봉입한 유성용액을 옥틸로늄 브로마이드의 투여량을 달리하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 파클리탁셀을 봉입한 유성용액 100 μl (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 Balb/c 마우스에 경구투여하였다 (단독투여군). 병용투여군으로 옥틸로늄 브로마이드 0.5, 2 또는 4 mg을 인산염 완충액 200 μl 에 용해시킨 후 경구로 투여한 직후 파클리탁셀을 봉입한 유성용액 100 μl (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 경구투여하였다. 약물투여후 1, 2, 4 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 4에서 보여준다. 실시예 1에서 사용한 정맥주사한 군 (파

클리탁셀 10 μg /마우스)과 비교하여 생체이용율을 계산하였다. 파클리탁셀을 봉입한 유성용액을 단독으로 투여할 경우 생체이용율은 2.3 %로 거의 흡수되지 않으나, 옥틸로늄 브로마이드와 병용투여할 경우 생체이용율은 옥틸로늄 브로마이드의 투여량이 증가함에 따라 표 1에서와 같이 증가함을 보여준다.

<86> 【표 1】

옥틸로늄 브로마이드의 투여량 (mg)	생체이용율 (%)
0	2.3
0.5	31.1
2	41.9
4	104.4

<87> <실시예 5>

<88> 뒤집은 장 절편 (everted sac)을 이용한 로다민 123 흡수 실험

<89> 로다민(rhodamine) 123은 p-당단백질에 의해 장흡수가 저해되는 것으로 잘 알려진 형광물질이다. 쥐 (SD rat)를 희생한 후 소장 중 회장을 분리했다. 분리된 회장을 약 2 cm 크기로 자른 후 뒤집어서 내부 장 점막조직이 외부로 나오도록 만들었다. 뒤집은 장 절편 (everted sac)은 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 로다민 123이 포함된 크렙스-링거 완충용액 1 ml (Krebs-Ringer buffer, KRB solution, pH 6.4)에 넣은 후 산소가 공급되는 37 $^{\circ}\text{C}$ 인큐베이터에 1 시간 동안 보관하였다 (단독투여군). 복합투여군에는 200 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 옥틸로늄 브로마이드와 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 로다민 123이 포함된 크렙스-링거 완충용액 1ml에 뒤집은 장 절편을 넣고 단독투여군에서와 같은 방법으로 보관하였다. 1 시간 경과 후 뒤집은 장 절편을 크렙스-링거 완충용액 1 ml를 넣고 분쇄한 후 원심분리하였다. 상층액을 취하여 형광법으로 로다민 123을 정량한 결과를 도 3에서 보여준다. 로다민 123을 단독투여 할 경우 로다민이 0.95 $\mu\text{g}/\text{g}$ 의 농도로 장 절편에 흡수된 반면 옥틸로늄 브로마이드와 병용

투여시 4.3 $\mu\text{g/g}$ 의 농도로 흡수되었다. 이는 전체 용액중의 옥틸로늄 브로마이드 량의 각각 3 % 및 14.5 %에 해당하며, 옥틸로늄 브로마이드는 로다민 123의 흡수량을 4.5 배 증가시켰음을 알 수 있다.

<90> <실시에 6> 뒤집은 장 절편 (everted sac)을 이용한 독소루비신흡수 실험

<91> 독소루비신은 경구투여시 p-당단백질에 의해 장흡수가 저해되는 것으로 잘알려진 항합제이다. 로다민 123대신 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 독소루비신을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5와 같은 방법으로 뒤집은 장절편을 이용한 흡수실험을 하였다. 독소루비신을 단독투여 할 경우 독소루비신이 0.4 $\mu\text{g/g}$ 의 농도로 장 절편에 흡수된 반면 옥틸로늄 브로마이드와 병용투여시 11 $\mu\text{g/g}$ 의 농도로 흡수되었다. 이는 전체 용액중의 옥틸로늄 브로마이드 량의 각각 0.12 % 및 3.3 %에 해당하며, 옥틸로늄 브로마이드는 로다민 123의 흡수량을 28 배 증가시켰음을 알 수 있다.

<92> <실시에 7>

<93> 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립 제조

<94> 1. 일정한 크기의 과립 제조

<95> 일정한 크기의 과립을 제조하기 위해 300 g의 당, 100 g의 HPMC 2910, 700 g의 옥수수전분, 20 g의 PEG 6000, 1050 g의 물, 950 g의 아세톤, 1050 g의 에탄올로 이루어진 조성물을 이용하여 355 ~ 500 μm 크기의 당(sugar) 입자를 시드(seed)로 하여 일정한 크기로 코팅기를 이용하여 코팅하였다. 제조되어진 과립의 크기는 650 ~ 710 μm 으로 측정되어졌다. 코팅시 코팅기의 조건을 하기 표2에서 보여준다.

<96> 【표 2】

예열 :	20 분
입구온도	28 ℃
출구온도	23 ℃
입구 공기주입 setting	30
스프레이:	100 분
노즐크기	2.5 mm
오토마이징 기압	1.8 ~ 2.3 bar
출구온도	23 ℃
입구온도	32 ℃
입구 공기주입 setting	30
고기분산판 형태	D
유속	20
스프레이 기압증가율	0.5 bar/5 유속
유속 증가율	5 유속/5 min
온도증가율	2℃/5 min
Drying :	30 분
입구온도	40 ℃
출구온도	32 ℃
입구 공기주입 setting	40

<97> 2. 제조된 과립에 약물함유 층의 코팅.

<98> 26.7 g의 HPMC 2910, 200 g의 옥수수전분, 70 g의 옥틸로늄 브로마이드, 5.3 g의 PEG 6000, 700 g의 물, 350 g의 아세톤, 500 g의 에탄올을 포함한 코팅용액을 제조한 후, 제조된 과립 200g에 코팅하였다. 이렇게 제조되어진 코팅된 과립의 크기는 800 ~ 1000 μm 의 측정되어졌고 코팅을 한 후의 수율은 90 % 이다.

<99> 3. 서방형 외피 코팅

<100> 약물의 서방형 방출 제어를 위하여 코팅된 과립에 폴리메타아크릴레이트 계열의 화합물인 유드라짓 (Eudragit)RS 또는 유드라짓 NE를 포함한 조성물을 사용하여 외피코팅을 하였다. 유드라짓 RS 및 유드라짓 NE의 조성물의 고성성분 및 조성비를 하기 표3 또는 표 4에서 각각 보여준다.

<101> 유드라짓 RS 100 코팅 조성.

<102> 【표 3】

성분	무게 (g)	
	유드라짓® 7%*	유드라짓® 14%*
과립	800	800
유드라짓® RS 100	56	112
메틸렌 클로라이드	428	856
아세톤	408	816
탈크	56	112
트리에틸 시트레이트	8.4	16.8
총량	1,756.4	2,712.8

<103> Eudragit NE 30 D 코팅 조성.

<104> 【표 4】

성분	무게 (g)	
	유드라짓® 10%*	유드라짓® 20%*
과립	800	800
유드라짓® NE 30 D	266	532
물	400	800
탈크	56	112
트리에틸 시트레이트	12	24
총량	1,756.4	2,268

<105> <실시예 8>

<106> 유드라짓 RS 100을 이용한 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립으로부터의 약물방출

<107> 실시예 7에서 제조한 유드라짓 RS로 코팅한 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립을 과량의 물에 넣고 시간경과에 따르는 옥틸로늄 브로마이드의 방출량을 측정하였다. 그 결과를 도7에서 보여준다. 유드라짓의 함량이 7 %인 경우 약 4 시간 경과시 50 %의 약물이 방출되는 반면, 유드라짓의 함량이 14 %인 경우에는 10시간 경과 후에도 약 40 % 밖에 방출되지 않으므로 약물방출속도를 조절할 수 있음을 알 수 있다.

<108> <실시예 9>

<109> 유드라짓 NE 30 D를 이용한 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립으로부터의 약물방출

<110> 실시예 7에서 제조한 유드라짓 NE로 코팅한 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립을 과량의 물에 넣고 시간경과에 따르는 옥틸로늄 브로마이드의 방출량을 측정하였다. 그결과를 도8에서 보여준다. 유드라짓의 함량이 10 %인 경우 약 2 시간 경과시 50 %의 약물이 방출되는 반면, 유드라짓의 함량이 20 %인 경우에는 10시간 경과 후에도 약 20 % 밖에 방출되지 않으므로 약물방출속도를 조절할 수 있음을 알 수 있다.

<111> <실시예 10>

<112> 유드라짓 RS 100을 이용한 옥틸로늄 브로마이드의 서방형 과립으로부터의 약물방출

<113> 상기 실시예 7에서와 같은 방법으로 과립을 제조하고 제조된 과립에 약물함유 층을 코팅하여 제조된 옥틸로늄 브로마이드를 함유한 과립을 제조하였다. 서방형 외피코팅을 하기 위하여 실시예 6의 유드라짓 RS 100을 7% 코팅 조성물에 첨가제인 HPMC 2910(hydroxy propyl methyl cellulose 2910, 이하 '히드록시 프로필 메틸 셀룰로즈'라 칭함)를 유드라짓 RS 100을 기준으로 10, 20, 30, 40, 50 무게%에 해당되는 양만큼 각각 첨가하여 만든 HPMC를 함유한 외피코팅용 조성물을 이용하여 외피코팅하였다. 옥틸로늄 브로마이드의 방출결과를 도 9에 나타내었다. HPMC의 양이 증가 함에 따라 약물의 방출속도가 느려짐을 알 수 있다.

【발명의 효과】

<114> 본 발명은 p-당단백질의 활성을 저하하기 위하여 옥틸로늄 브로마이드를 사용하는 방법을 제공한다. 옥틸로늄 브로마이드는 경구투여시 파클리탁셀의 생체이용율을 획기적으로 증가시켰다. 또한, 로다민 123의 흡수율 실험에 의하여 옥틸로늄 브로마이드가 P-당단백질 저해 작용을 하는 것을 알 수 있다. 이로 인해 p-당단백질에 의해서 세포 밖으로 방출되는 여러 가지 약물의 생체이용율을 높이기 위해 옥틸로늄 브로마이드를 사용할 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

세포의 다약제내성에 관여하는 p-당단백질의 활성을 저하시킴으로써, 약물의 세포 내 흡수성을 증진시키기 위하여 사용되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 개체 중량 Kg 당 0.01 mg 내지 1 g의 양으로 사용되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 3】

제 1 항에 있어서, 서방형으로 제조되어 12 시간까지 지속적으로 방출되도록 조절되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 4】

제 3 항에 있어서, 상기 서방형 제제가 시드가 되는 일정한 크기의 과립을 제조한 후, 옥틸로늄 브로마이드로 과립을 코팅하고 외피에 약물의 방출속도를 조절할 수 있는 고분자 코팅을 하여 제조되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 5】

제 1 항에 있어서, 약물과 동시에 투여되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 6】

제 1 항에 있어서, 약물 투여 5 ~ 60 분전에 투여되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효 성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 7】

제 1 항에 있어서, 정맥주사, 근육주사, 종양내 주사, 피하주사, 경구투여, 방광내 투여 또는 복강투여를 통하여 투여되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 8】

제 7 항에 있어서, 정제 또는 캡슐의 형태로 경구 투여되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 9】

제 1 항에 있어서, 상기 약물이 독소루비신 (Doxorubicin), 도노루비신 (Daunorubicin), 빈블리스틴 (Vinblastine), 빈크리스틴 (Vincristine), 액티노마이신 D (Actinomycin D), 파클리탁셀 (Paclitaxel), 테니포사이드 (Teniposide), 에토포사이드 (Etoposide), 사이클로스포린 A (Cyclosporin A), FK506, 로바스타틴 (Lovastatin), 항히스타민제인 터펜다인 (Terfendaine), 알도스테론 (Aldosterone), 하이드로코티손 (Hydrocortisone), 코티졸 (Cortisol), 코기코스테론 (Corticosterone), 덱사메타손 (Dexamethasone), 도페리돈 (Domperidone), 암프레나비르 (Amprenavir), 인다나비르 (Indinavir), 넬피나비르 (Nelfinavir), 리도나비르 (Ritonavir), 사퀴나비르 (Saquinavir), 디곡신 (Digoxin), 퀴니딘 (Quinidine), 온단세트론 (Ondansetron), 로페

라미드 (Loperamide), 통풍치료제인 콜키신 (Colchicine), 에리스로마이신 (Erythromycin), 이베르멕틴 (Ivermectin), 리팜핀 (Rifampin) 및 로다민 123로 구성되는 군 중에서 선택되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 10】

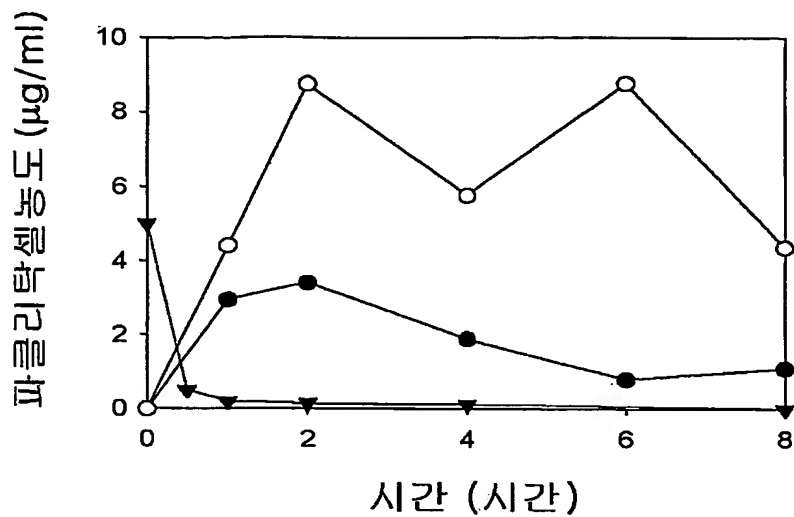
제 1 항에 있어서, 항암제의 흡수율을 높이기 위하여 사용되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【청구항 11】

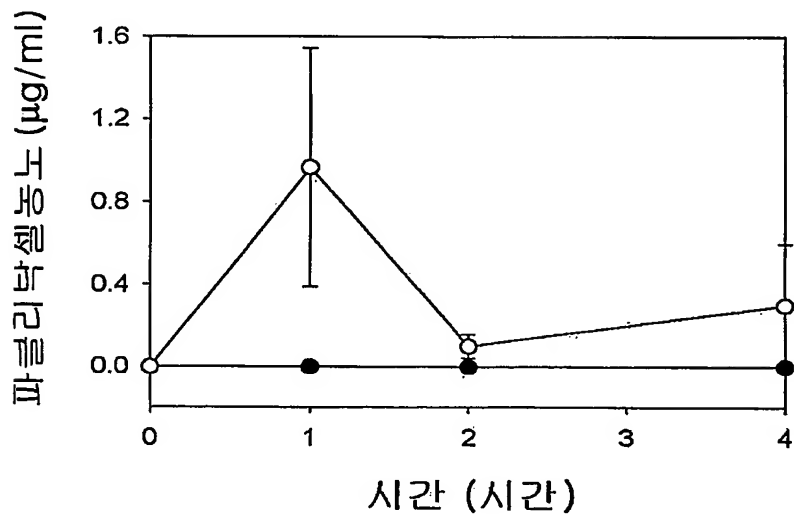
제 1 항에 있어서, 모노글리세라이드, 기름 및 유화제로 구성되는 군 중에서 선택되는 한 가지 이상으로 구성되는 유성조성물에 봉입된 약물과 병용투여되는 옥틸로늄 브로마이드를 유효성분으로 하는 p-당단백질 활성 저해제.

【도면】

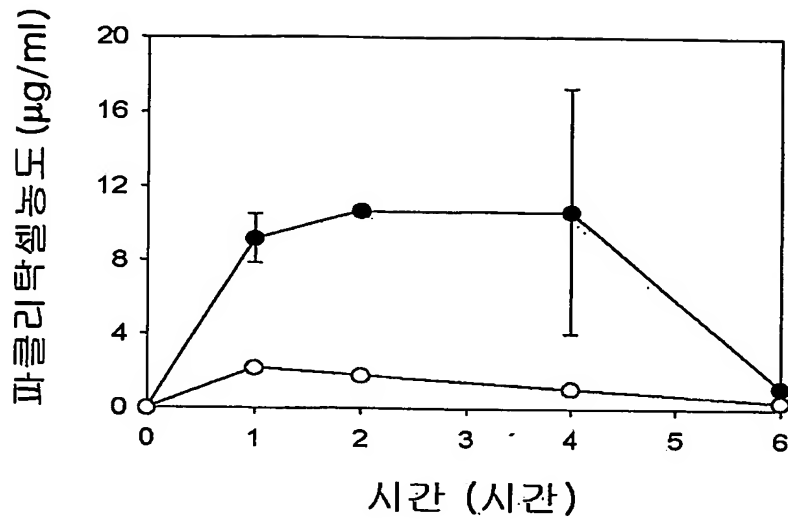
【도 1】



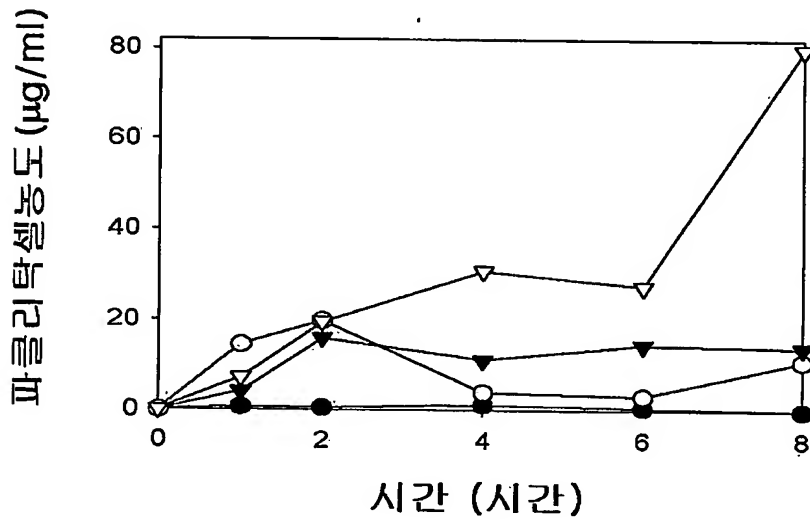
【도 2】



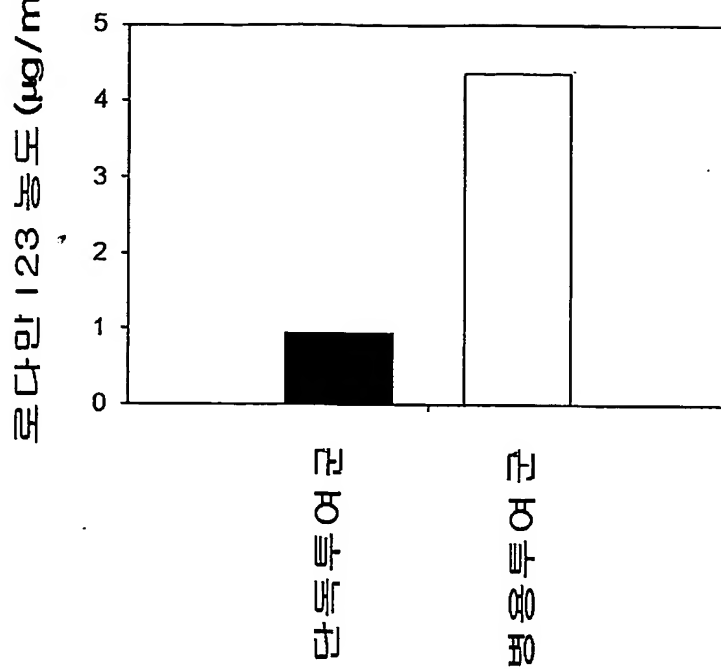
【도 3】



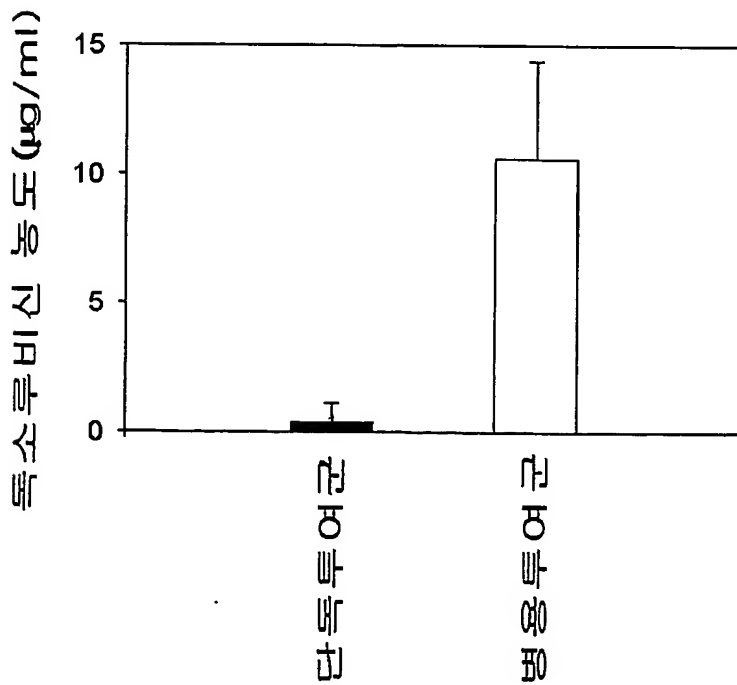
【도 4】



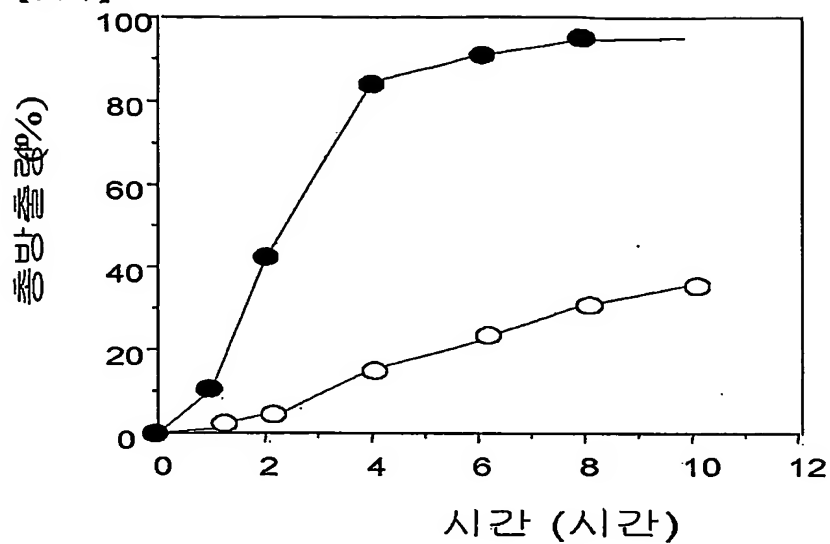
【도 5】



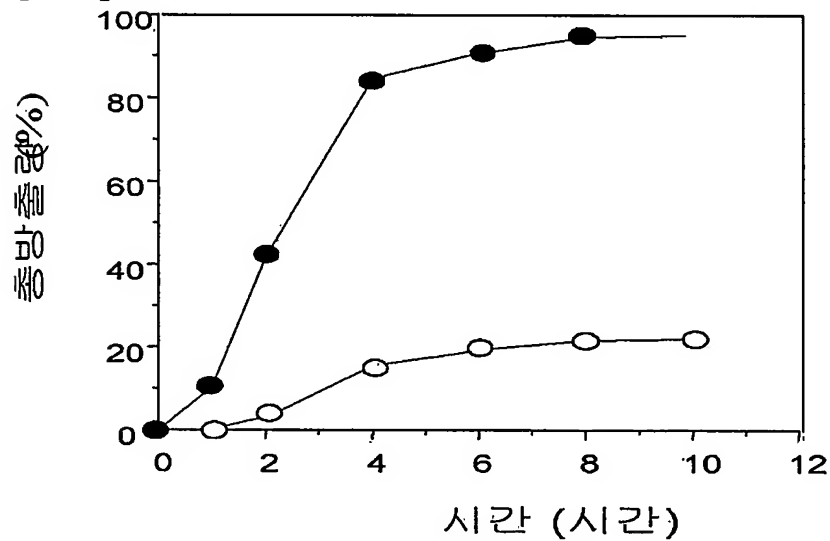
【도 6】



【도 7】



【도 8】



【도 9】

